

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Telaah Pustaka

1. Histopatologi

Histopatologi adalah salah satu pelayanan laboratorium patologi anatomi dari sampel berupa jaringan operasi, biopsi, atau kerokan. Pemeriksaan ini berfungsi untuk melihat perubahan morfologi sel dari jaringan dengan metode *paraffin*. Pemeriksaan ini adalah *gold standard* untuk menentukan kelainan neoplasma atau non neoplasma serta menentukan terapi selanjutnya (Fatimah, 2017).

Histopatologi juga merupakan prosedur yang melibatkan pemeriksaan jaringan utuh yang diambil melalui biopsi atau operasi dan diperiksa dibawah mikroskop. Pemeriksaan ini sering didukung oleh penggunaan teknik pewarnaan khusus dan tes terkait lainnya, misalnya penggunaan antibodi untuk mengidentifikasi berbagai komponen jaringan pada tubuh (Rizal , 2020).

2. Histoteknik

Histoteknik adalah proses dalam pembuatan sediaan histologi dari spesimen tertentu melalui rangkaian proses tertentu hingga menjadi sediaan yang bisa diamati dan dianalisa. Ada 9 proses yang dibutuhkan untuk menghasilkan sediaan histologi, diawali dengan isolasi jaringan organ yang diinginkan (*eksisi*), pengawetan (fiksasi), pengeluaran air (*dehidrasi*),

penjernihan (*clearing*), mengeluarkan cairan pemjernih (*embedding*), penanaman jaringan pada *paraffin* cair (*bloking*), pemotongan (*cutting*) dan pewarnaan (*staining*) (Prahanarendra, 2015).

Ada 3 tahap dalam penanganan sampel jaringan, yaitu tahap pre analitik, analitik dan post analitik. Tahap pre analitik memegang peranan paling besar yakni 75% dalam keakuratan diagnosis, sisanya adalah tahap analitik 10% dan tahap post analitik 15%. Tahap pre analitik dimulai sejak jaringan atau cairan dikeluarkan dari tubuh manusia. Tahap pre analitik ini berlanjut dengan pengumpulan sampel, pemberian label, pengemasan serta tahap transportasi yaitu pengiriman jaringan sampai ke laboratorium patologi anatomi (Kemenkes, 2022).

Tahapan histoteknik yang pertama adalah fiksasi, fiksasi ini bertujuan mempertahankan struktur atau komponen molekul suatu jaringan, menghambat proses pembusukan dan autolisis, pengawetan, pengerasan jaringan, dengan cara menyerap cat. Fiksasi ini menggunakan larutan isotonik dari *formaldehida* 4% dan *glutaraldehida* (Soesilawati, 2019).

3. Spesimen Jaringan

Spesimen jaringan adalah jaringan atau organ tubuh manusia hasil operasi baik berupa *biopsi eksisi* atau *biopsi insisi* yang dikirim oleh dokter klinik sebagai hasil tindakan operasi. Semua hasil operasi oleh dokter klinis berupa organ atau jaringan tubuh serta cairan harus dikirim ke laboratorium patologi anatomi untuk dilakukan pemeriksaan (Kemenkes, 2022).

Keberhasilan diagnosis histopatologi tergantung pada penanganan jaringan yang benar. Jaringan apabila keluar dari tubuh maka aliran darah akan terhenti sehingga oksigenpun terhenti, dan mengakibatkan enzim intraseluler dan mikroorganisme akan bekerja untuk merusak jaringan (Thomson, 2020). Faktor pra analitik perlu diperhatikan pada tahap ini yaitu pada saat jaringan baru diisolasi dari tubuh, maka harus segera dilakukan pengawetan. Penanganan ini bertujuan untuk menghindari proses autolisis dan degradasi antigen dan asam nukleat (Annaratone, 2019).

Langkah-langkah penanganan *spesimen* jaringan yang baik :

a. Hindari cedera pada jaringan

Hal ini biasanya terjadi selama pembedahan. Jaringan harus diangkat secara hati-hati agar tidak hancur atau robek.

b. Mencegah jaringan supaya tidak kering

Spesimen tidak boleh kering sebelum difiksai. Jika fiksasi tidak bisa dilakukan segera, maka bisa direndam sementara dengan larutan garam atau NaCl.

c. Mencegah kerusakan akibat panas

Sebisa mungkin hindari kerusakan akibat panas lokal (yang disebabkan alat cauter) pada spesimen.

d. Hindari kerusakan kimia

Hindari kontaminasi spesimen dengan bahan kimia atau zat asing seperti desinfektan.

e. Label spesimen dengan benar

Setiap spesimen harus diidentifikasi dengan benar dan label harus dicatat sesegera mungkin.

f. Jaringan segera difiksasi

Fiksasi harus dilakukan segera. Jika diperlukan penundaan dalam waktu yang singkat, spesimen harus disimpan dalam lemari es pada suhu 4⁰C.

g. Gunakan fiksasi yang cukup dan wadah spesimen yang sesuai

Volume fiksasi harus memadai (1:20) dan ditempatkan dalam wadah dengan ukuran yang sesuai. Hal ini untuk menghindari distorsi pada spesimen jaringan segar dan untuk memastikan kualitas fiksasi baik.

h. Periksa pH larutan fiksasi

Agar kinerja larutan fiksasi optimal, maka larutan fiksasi sebaiknya memiliki pH netral yaitu antara 6,8-7,4.

i. Mempercepat fiksasi spesimen jaringan yang besar

Spesimen jaringan yang besar harus dilamelasasi dengan jarak 0,5-1 cm tanpa putus, hal ini bertujuan agar penetrasi fiksasi berlangsung cepat.

j. Spesimen jaringan harus segera dikirim ke laboratorium

k. Spesimen jaringan harus diperlakukan secara hati-hati

Hal ini untuk menghindari spesimen yang rapuh agar tidak hancur atau rusak (Biosystem, 2023).

4. Mekanisme Kematian Sel

Kematian sel dalam jaringan dapat terjadi melalui beberapa mekanisme, dan waktu yang dibutuhkan hingga sel dan jaringan mengalami

kerusakan bervariasi tergantung pada berbagai faktor, termasuk jenis sel, kondisi lingkungan dan jenis kematian sel yang terjadi. Berikut beberapa mekanisme kematian sel dan faktor yang mempengaruhi waktu yang dibutuhkan :

a. Apoptosis

Apoptosis adalah kematian sel terprogram yang biasanya memakan waktu beberapa jam hingga beberapa hari. Ini mengakibatkan serangkaian perubahan seluler yang terkoordinasi, termasuk penyusutan sel, pembelahan inti dan pembentukan badan apoptotik. Proses ini biasanya tidak merusak jaringan sekitarnya.

b. Nekrosis

Nekrosis adalah kematian sel akibat kerusakan akut, seperti cedera fisik. Proses ini bisa terjadi relatif cepat dalam beberapa jam, terutama jika kerusakan parah. Nekrosis cenderung merusak jaringan sekitarnya dan dapat memicu peradangan.

c. Autolisis

Autolisis adalah penguraian sel oleh enzim seluler setelah kematian. Waktu yang dibutuhkan untuk autolisis bervariasi tergantung pada berbagai faktor, termasuk suhu lingkungan, kelembaban, dan jenis sel. Pada suhu yang lebih tinggi dan lingkungan yang lembab, autolisis bisa lebih cepat. Pada suhu yang lebih rendah, proses autolisis dapat memakan waktu berhari-hari atau lebih lama.

Tahap kerusakan sel jaringan setelah keluar dari tubuh sama dengan tahap kerusakan sel jaringan setelah kematian. Berikut tahap-tahap umum yang terjadi setelah kematian :

a. Iskemia awal

Iskemia terjadi hampir seketika setelah kematian, saat pasokan oksigen ke sel dan jaringan terhenti. Selama tahap ini, tidak ada pasokan oksigen dan nutrisi yang masuk ke sel.

b. Rigor Mortis

Beberapa jam setelah kematian, otot tubuh mulai mengeras secara bertahap dalam kondisi yang dikenal sebagai rigor mortis. Ini disebabkan oleh akumulasi asam laktat dalam otot.

c. Pengeringan dan Penghentian Proses Metabolik

Setelah kematian, sel-sel dalam tubuh tidak lagi mendapatkan pasokan oksigen dan proses metabolik yang aktif sebelumnya akan terhenti.

d. Pembedahan

Proses pembedahan dimulai beberapa hari setelah kematian. Ini melibatkan aktivitas bakteri usus yang menguraikan jaringan dan menyebabkan pelepasan gas dan senyawa berbau.

e. Larutan Putih

Setelah beberapa minggu, tubuh dapat mengalami larutan putih ketika jaringan dan organ semakin terurai.

f. Ossifikasi Post Mortem

Pada tahap ini, terjadi perubahan pada tulang. Proses ini biasanya terjadi dalam beberapa bulan hingga tahun setelah kematian.

5. Fiksasi Jaringan

a. Definisi Fiksasi

Fiksasi adalah suatu tindakan yang dilakukan untuk membuat struktur dan unsur-unsur jaringan menjadi stabil, tidak mengalami perubahan pasca kematian. Fiksasi merupakan salah satu bagian dari beberapa tahapan dalam pembuatan sediaan histologi. Jaringan yang dikeluarkan dari tubuh akan mengalami kerusakan pada struktur jaringan yang disebabkan oleh pengaruh enzim proteolitik dan pengaruh bakteri pembusuk (Rusmiatik, 2019).

b. Mekanisme dan fungsi Fiksasi

Fiksasi menstabilkan komponen sel dengan membuatnya tidak larut, sehingga mampu mengurangi perubahan akibat proses selanjutnya. Fiksasi juga dapat mencegah kerusakan osmotik pada jaringan yang dapat menyebabkan penyusutan atau pembengkakan sel, sehingga keadaan struktur sel dan jaringan sama seperti masih hidup (Singh, 2019). Semua jaringan yang berasal dari organisme hidup atau mati akan mengalami degradasi intrinsik (*autolisis*) dan degradasi ekstrinsik yang disebut pembusukan. Fiksasi bertujuan mempertahankan morfologi dan molekuler jaringan semirip mungkin dengan organisme hidup atau mengurangi

perubahan struktural dan molekuler pada jaringan yang mungkin terjadi selama pemrosesan di laboratorium (Megias, 2023).

Fungsi utama fiksatif adalah untuk mencegah *autolisis* sel yang disebabkan oleh enzim dan mencegah pembusukan yang disebabkan oleh bakteri pada jaringan. *Autolisis* menjadi masalah yang sering terjadi pada jaringan kaya enzim, dan jaringan yang *autolisis* tidak bisa terwarnai dengan baik apabila diperiksa di mikroskopis. Invasi bakteri juga bisa dihindari dengan mengikuti metode antiseptik yang baik. Fungsi penting lainnya adalah melestarikan hubungan antara sel dan zat ekstraseluler. Fiksatif menstabilkan komponen sel dengan membuatnya tidak larut, sehingga mengurangi perubahan akibat perlakuan selanjutnya dan juga mencegah kerusakan osmotik jaringan, yang dapat menyebabkan penyusutan atau pembengkakan, sehingga menjaga sel dan jaringan struktur dalam keadaan seperti kehidupan aslinya. Fiksasi juga melakukan berbagai fungsi lain seperti membuat jaringan menjadi kencang, sehingga pemotongan kasar menjadi lebih mudah. Selain itu, bahan fiksatif membantu membuat jaringan lebih mudah ditembus untuk reagen berikutnya dan berperan dalam menekankan ketidaksamaan dalam indeks bias dan dengan demikian membantu dalam peningkatannya (singh, 2019).

Penting untuk disadari bahwa fiksasi pada awalnya akan menghasilkan sejumlah perubahan pada jaringan yang biasanya merupakan lingkungan berair. Ini termasuk penyusutan, pembengkakan dan pengerasan berbagai komponen. Meskipun ada efek awal ini, jaringan

akan mengalami perubahan lebih lanjut selama pemrosesan ketika ditempatkan di lingkungan non air. Misalnya fiksasi dalam formalin buffer 10% awalnya menyebabkan sedikit pembengkakan pada spesimen jaringan, namun selama pemrosesan, spesimen dapat menyusut 20%-30%. Bahan fiksasi tertentu yang digunakan juga akan mempengaruhi sejauh mana unsur-unsur individu akan diwarnai dengan berbagai reagen histokimia dan imunohistokimia. Oleh karena itu, efek total fiksasi tertentu pada jaringan harus dinilai setelah jaringan diproses, dipotong, diwarnai untuk menunjukkan unsur-unsur yang diperlukan (Rollis, 2018).

c. Prinsip-Prinsip Dasar Fiksasi

1) Koagulasi

Koagulasi adalah proses penggumpalan partikel koloid didalam sel karena adanya penambahan bahan kimia atau pemberian perlakuan fisik sehingga partikel-partikel tersebut bersifat netral dan membentuk endapan. Koagulasi pada proses fiksasi dapat terjadi pada protein yang ada didalam sel atau kandungan lainnya yang dianggap perlu dipertahankan akibat *degradasi* yang terus berlangsung (Khristian & Inderiati, 2017).

2) Presipitasi

Secara umum presipitasi adalah pengendapan yang terjadi akibat koagulasi yang terjadi sebelumnya. Presipitasi yang diharapkan ketika proses fiksasi adalah presipitasi protein, yang mana protein inilah yang

menjadi salah satu faktor utama pembusukan (Khristian & Inderiati, 2017).

Proses fiksasi yang baik harus memenuhi beberapa syarat, sebagai berikut:

1. Fiksasi memiliki daya penetrasi yang baik kedalam jaringan
2. Fiksasi tidak menyulitkan dan murah biayanya
3. Fiksasi harus bisa menghambat pembusukan oleh bakteri dan terjadinya autolisis
4. Fiksasi harus memberikan perbedaan gambaran mikroskopis yang bagus
5. Fiksasi tidak boleh menyebabkan penyusutan, pembengkakan, atau perubahan sel lainnya
6. Fiksasi harus bisa membuat jaringan menjadi tahan lama

(Alwi, 2016).

d. Faktor-Faktor Yang Mempengaruhi Fiksasi

1) Suhu/Temperatur Fiksasi

Peningkatan suhu pada semua reaksi kimia akan meningkatkan kecepatan fiksasi dan akan meningkatkan difusi dari agen fiksasi kedalam jaringan. Formalin dengan suhu tinggi akan memperbaiki jaringan lebih cepat dan sebagai langkah pertama pada proses jaringan. Namun tetap diperlukan perhatian untuk menghindari spesimen terlalu masak. Fiksasi secara rutin dilakukan pada suhu kamar dan dilanjutkan pada fiksasi selanjutnya pada suhu sampai 45⁰ C selama pengolahan jaringan (Musyarifah, 2018).

2) Kemampuan penetrasi dan ketebalan pemotongan

Penetrasi jaringan tergantung pada kemampuan berdifusi dan berat molekul dari setiap larutan fiksasi, dimana formalin dan alkohol mempunyai kemampuan penetrasi terbaik dan *glutaraldehyd* yang terburuk. Salah satu cara untuk mengatasi masalah ini dengan pemotongan jaringan tipis atau lamelasi (2-3 mm). Penetrasi pada potongan tipis akan terjadi lebih cepat daripada bagian tebal. Ketebalan sebuah spesimen jaringan tidak boleh lebih dari 4 mm. Idealnya spesimen dengan tebal 3 mm dapat menghasilkan fiksasi dan pengolahan jaringan yang baik (Musyarifah, 2018).

3) Waktu Fiksasi

Fiksasi dilakukan secepatnya setelah jaringan di *eksisi*. Waktu fiksasi optimal tergantung pada beberapa faktor dan bervariasi tergantung dengan jenis agen fiksatif yang digunakan, misalnya ketebalan spesimen jaringan dan sebagian besar fitur dari proses fiksasi (suhu, kapasitas *buffering*, penetrasi zat fiksatif, dan perbandingan volume). Fiksasi berkepanjangan dapat menyebabkan hilangnya aktifitas antigen, penyusutan dan pengerasan jaringan (Musyarifah, 2018).

4) Volume Pengawet

Perbandingan volume jaringan dengan larutan fiksasi sangat bervariasi. Perbandingan volume fiksasi optimal adalah 10:1, namun beberapa penelitian menunjukkan bahwa volume fiksasi yang lebih

sedikit (2:1) dapat memberikan hasil yang setara nilai dan karakteristik diagnosanya. Proses fiksasi lebih tergantung pada waktu dan suhu dari pada volume larutan fiksasi (Jalali, 2023).

5) Tingkat Keasaman (*pH*)

Tingkat keasaman (*pH*) larutan fiksasi dapat mempengaruhi hasil pewarnaan. *pH* terbaik adalah pada pH fisiologis yaitu berkisar 6-8. Untuk mendapatkan *pH* yang fisiologis ini perlu ditambahkan *buffer phospat* kedalam larutan fiksasi (Jalali, 2023).

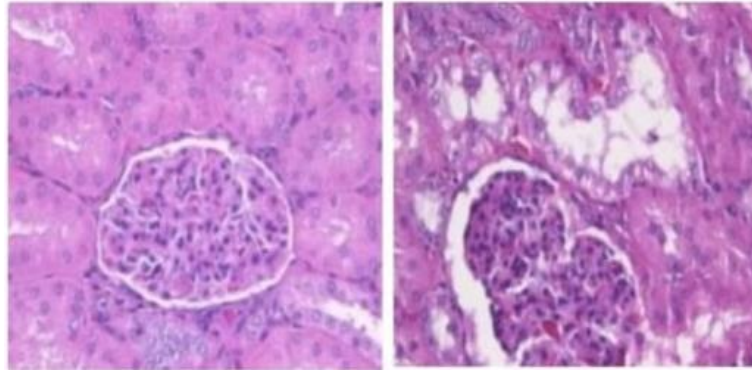
6. Penentuan Larutan Fiksasi Yang Tepat

Histopatologi moderen dibangun berdasarkan prinsip dasar fiksasi jaringan. Walaupun saat ini belum ada metode analisis untuk mendeteksi fiksasi dan akibatnya. Dalam praktis klinis, fiksasi sangat bervariasi dan merupakan sumber kesalahan yang terjadi terus menerus. Larutan fiksasi yang paling umum adalah larutan Bufer Netral Formalin 10% yang merupakan larutan *formaldehida*. Pemilihan cairan formalin dalam bufer dan telah digunakan selama lebih dari 1 abad (Bauer, 2021).

7. Bufer Netral Formalin 10% (BNF)

Salah satu jenis larutan fiksasi yang paling banyak digunakan dan masih merupakan *gold standart* dalam pembuatan sediaan histopatologi adalah Bufer Netral Formalin 10%. BNF 10% juga cocok untuk fiksasi sampel jaringan jangka pendek tetapi juga efisien untuk penyimpanan sampel jaringan jangka panjang dan kompatibel dengan target seperti protein dengan berat molekul rendah, peptida, dan enzim. BNF 10% adalah larutan yang

terdiri dari *formaldehida* 30-40% yang dilarutkan dengan *Buffer fosfat* pada *pH* netral (Musyarifah, 2018).



Gambar 1 : Jaringan dengan fiksasi yang baik (kiri), jaringan dengan fiksasi yang buruk (kanan) (Musyarifah, 2018).

8. Proses Jaringan Menggunakan *Tissue Processor*

Prosesing jaringan merupakan histoteknik penting setelah prosedur biopsi dan fiksasi. Spesimen jaringan yang sudah difiksasi kemudian dipotong untuk memilih bagian yang sesuai dengan pemeriksaan, dan akan ditempatkan dalam kaset (keranjang kecil berlubang), kemudian dilakukan proses didalam alat otomatis. Proses jaringan ini terdiri dari beberapa tahap yang saling menentukan satu dengan yang lain antara lain :

a. Formalin

Tahap ini terdiri dari 2 tabung BNF 10% yang masing-masing tabung diinkubasi selama 1,5 jam.



Gambar 2 : Alat *Tissue Processor* (Miconos, 2022)

b. *Dehidrasi*

Dehidrasi merupakan tahap pembenaman jaringan kedalam beberapa larutan alkohol dengan konsentrasi bertingkat. Tujuan dari penggunaan alkohol bertingkat ini adalah agar tidak terjadi perubahan yang tiba-tiba pada sel jaringan. *Dehidrasi* bertujuan untuk mengeluarkan seluruh cairan yang terdapat dalam jaringan yang telah difiksasi sehingga dapat diisi dengan parafin atau zat lain untuk membuat blok preparat (Harianto, 2021).

c. Penjernihan (*Clearing*)

Penjernihan merupakan tahapan membuat jaringan menjadi jernih dan transparan menggunakan pelarut organik seperti *Xylene* atau *Toluene*. Tahap ini bertujuan untuk mengeluarkan alkohol dari jaringan dan digantikan dengan parafin (Harianto, 2021).

d. Penanaman (*Embedding*)

Penanaman (*impregnasi*) yaitu proses perendaman jaringan didalam parafin yang dicairkan yang bertujuan untuk mengeluarkan cairan

pembening (*clearing*) dari jaringan dan diganti dengan parafin cair, selain itu juga membuat jaringan tahan terhadap pemotongan (Harianto, 2021).

9. Pembuatan Blok (*Blocking*)

Blocking adalah proses pembuatan blok jaringan dengan menggunakan media pendukung eksternal untuk mengaktifkan mikrotom. Media yang digunakan harus benar-benar kompatibel dengan media infiltrasi untuk mencegah pemisahan bagian jaringan dan untuk memudahkan pemotongan.

Sebagian besar laboratorium menggunakan parafin sebagai medianya. Parafin cair dialirkan kedalam cetakan hangat dan harus sesuai dengan ukuran jaringan. Jaringan diorientasi didalam cetakan, diletakkan dibagian dasar cetakan kemudian kaset ditempatkan diatas cetakan dan diisi parafin sampai penuh. Blok jaringan kemudian diletakkan diatas cold plate agar parafin mengeras (Wulansari, 2022).

10. Pemotongan

Pemotongan adalah proses pengirisan blok jaringan menjadi lembaran tipis yang nanti akan diletakkan objek glas. Alat yang digunakan pada proses pemotongan ini adalah mikrotom, yang mekanisme kerjanya yaitu menggerakkan blok jaringan agar bisa teriris sesuai dengan jarak yang diinginkan. Ketebalan pemotongan untuk jaringan rutin histopatologi adalah bekisar 3-5 mikron (Wulansari, 2022).

11. *Floating*

Langkah selanjutnya adalah proses *floating*, yaitu menempatkan irisan atau pita jaringan pada air hangat didalam waterbath, kemudian tempelkan

objek gelas pada irisan atau pita tersebut. Pada proses ini perlu diperhatikan kebersihan air didalam waterbath untuk menghindari kontaminasi (Wulansari, 2022).

12. Pewarnaan (*Staining*)

Staining merupakan proses pewarnaan jaringan yang bertujuan untuk memudahkan pada saat pengamatan menggunakan mikroskop dan membedakan bagian-bagian jaringan yang akan diamati seperti inti sel, sitoplasma dan lain-lain. *Staining* menggunakan waktu yang berbeda antara satu proses dengan proses yang lain. Waktu baku yang digunakan sesuai dengan literatur (buku atau jurnal) yang digunakan sebagai pedoman *staining* atau pewarnaan. Namun pada aplikasinya, waktu baku tidak dapat dijadikan pedoman pada semua jenis jaringan yang diwarnai (Ellyawati, 2018).

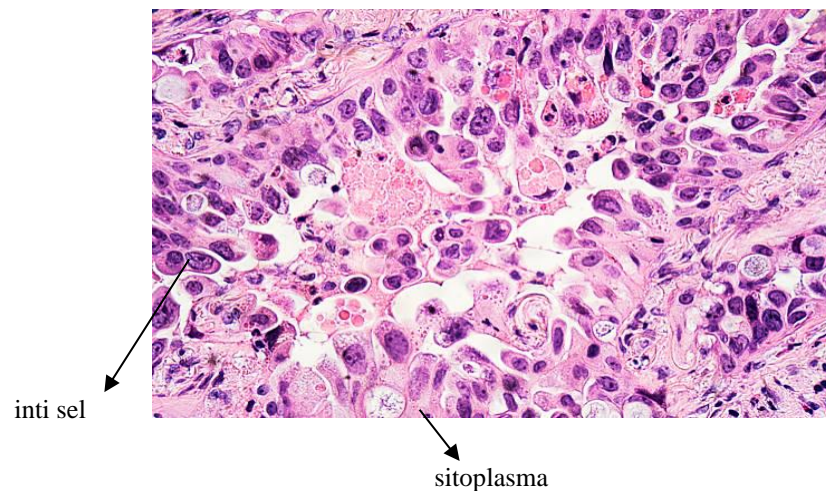
Pada proses pewarnaan perlu dilakukan deparafinisasi terlebih dahulu menggunakan *xylene*, agar zat warna mampu menembus bagian jaringan yang akan diwarnai. Proses pewarnaan dapat menggunakan berbagai jenis zat warna, tergantung jenis pemeriksaan yang diinginkan (Gurina, 2023).

Faktor yang mempengaruhi pewarnaan adalah reaksi asam basa, dimana komponen didalam sel terdiri dari komponen asam basa. Untuk komponen asam dapat diwarnai komponen basa dan pelarut dasar, begitupun sebaliknya. Faktor yang ke 2 yaitu Adsorpsi, dimana molekul kecil nantinya akan menempel pada molekul sel yang lebih besar. Yang ke 3 adalah faktor perbedaan kelarutan, jenis pewarnaan tergantung dari tingkat kelarutan yang ada pada sel (Gurina, 2023).

a. Pewarnaan *Haematoxylin Eosin*

Pewarnaan *Haematoxylin Eosin* adalah pewarnaan yang paling umum digunakan untuk membedakan struktur jaringan yang berbeda. *Haematoxylin* adalah pewarna yang bersifat basa yang akan mewarnai struktur asam. Warna yang dihasil oleh *Haematoxylin* adalah warna ungu atau ungu kebiruan. Struktur yang diwarnai oleh zat warna ini adalah *Basofilik* meliputi DNA pada inti sel, RNA pada *ribosom*, dan *retikulum endoplasma* kasar (Gurina, 2023).

Eosin adalah zat warna balasan yang dibuat setelah *Haematoxylin* dan merupakan zat warna yang bersifat asam yang targetnya adalah struktur dasar dari jaringan. Warna yang dihasilkan adalah merah muda atau merah terang. Struktur yang menarik zat warna *eosin* ini dinamakan *eosinofilik*, contohnya *sitoplasma* (Gurina, 2023).



Gambar 3 : Hasil mikroskopis jaringan dengan pewarnaan *Haematoxylin Eosin*. Inti sel berwarna biru/ungu kebiruan, sitoplasma berwarna merah muda (Simatupang, 2013).

b. Penilaian Kriteria Pewarnaan Inti sel dan Sitoplasma.

Tabel 1. Kriteria Pewarnaan Inti Sel dan Sitoplasma

No	Deskripsi	Kualitas	
		Skala Ordinal	Skala Interval
1	Intensitas warna biru pada inti sel dan warna merah muda pada sitoplasma tidak jelas	Tidak baik	1
2	Intensitas warna biru pada inti sel dan warna merah muda pada sitoplasma kurangjelas	Kurang baik	2
3	Intensitas warna biru pada inti sel dan warna merah muda pada sitoplasma jelas	Baik	3

Sumber : Aviana, 2018

c. Penilaian Kriteria Sel Membengkak

Tabel 2. Kriteria Sel Membengkak

No	Deskripsi	Kualitas	
		Skala Ordinal	Skala Interval
1	Sel membengkak >50% dari sediaan (sebagian besar)	Tidak baik	1
2	Sel membengkak <50% dari sediaan (sebagian kecil)	Kurang baik	2
3	Tidak ada sel membengkak	Baik	3

Singhal, dkk (2017).

d. Penilaian Kriteria Sel Menyusut/Mengkerut.

Tabel 3. Kriteria Sel Menyusut/Mengkerut

No	Deskripsi	Kualitas	
		Skala Ordinal	Skala Interval
1	Sel menyusut/mengkerut >50% dari sediaan (sebagian besar)	Tidak baik	1
2	Sel menyusut / mengkerut <50% dari sediaan (sebagian kecil)	Kurang baik	2
3	Tidak ada sel menyusut/mengkerut	Baik	3

Singhal, dkk (2017).

e. Penilaian Kriteria Sel Lisis.

Tabel 4. Kriteria Sel Lisis

No	Deskripsi	Kualitas	
		Skala Ordinal	Skala Interval
1	Sel lisis >50% dari sediaan	Tidak baik	1
2	Sel lisis <50% dari sediaan	Kurang baik	2
3	Tidak ada sel lisis	Baik	3

Singhal, dkk (2017).

f. Skoring Penilaian Total Sediaan

Tabel 5. Skoring Penelitian Total Sediaan

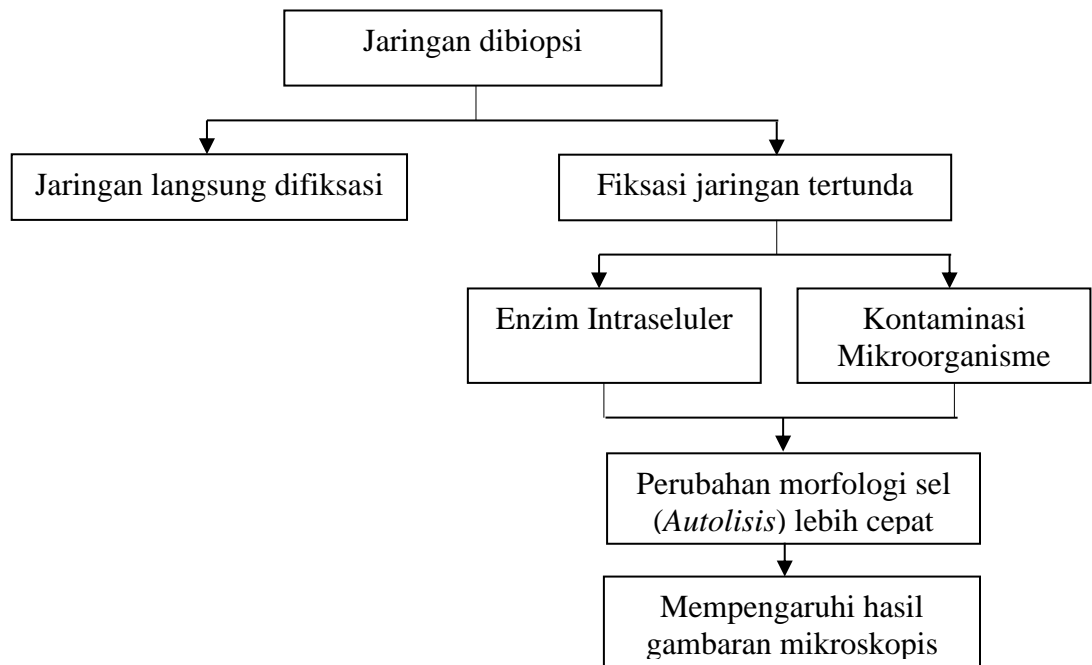
No	Deskripsi	Nilai
1	Tidak baik	1-5
2	Kurang baik	6-10
3	Baik	11-15

Sumber : Prasetiawan, dkk, 2012.

13. Mounting

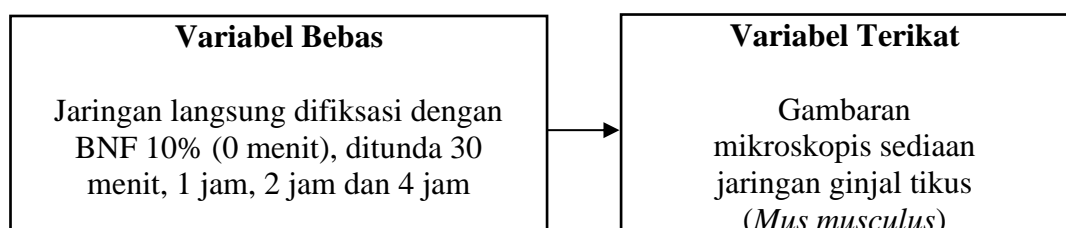
Mounting merupakan proses perekatan jaringan yang diletakkan pada permukaan kaca objek (*objek glass*), kemudian ditutup dengan kaca penutup (*cover glass*) menggunakan bahan perekat yang disebut dengan *mountant*. *Mountant* merupakan suatu zat yang mengisi antara sediaan dengan kaca penutup (*cover glass*). Ada 3 macam zat yang biasa digunakan pada proses *mounting*, diantaranya *Distrene Plasticisier Xylen (DPX)*, *Canada Balsama*, dan *Entellan* (Novita, 2023).

B. Kerangka Teori



Gambar 4. Kerangka Teori

C. Hubungan Antar Variabel



D. Hipotesa Penelitian

Ada pengaruh penundaan fiksasi dengan *Bufer Netral Formalin* 10% terhadap gambaran mikroskopis jaringan dengan pewarnaan *Hematoxylin Eosin*.